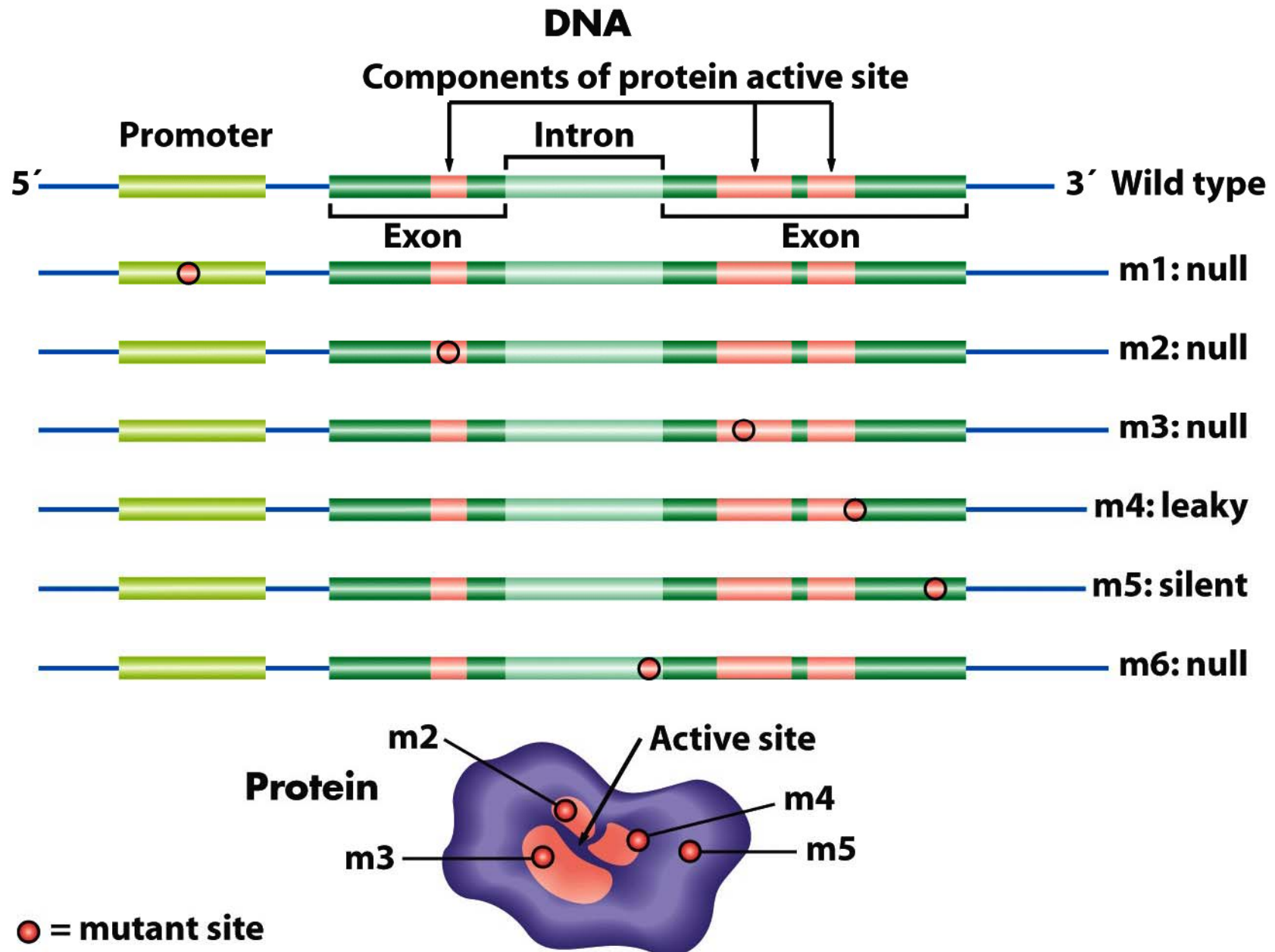


9. Mutationen

Konzepte:

- ➡ Vorwärts-/Rückwärts-Mutationen
- ➡ Somatische Zellen oder Keimzellen
- ➡ Loss-of-function/gain-of-function
- ➡ Mutagenese

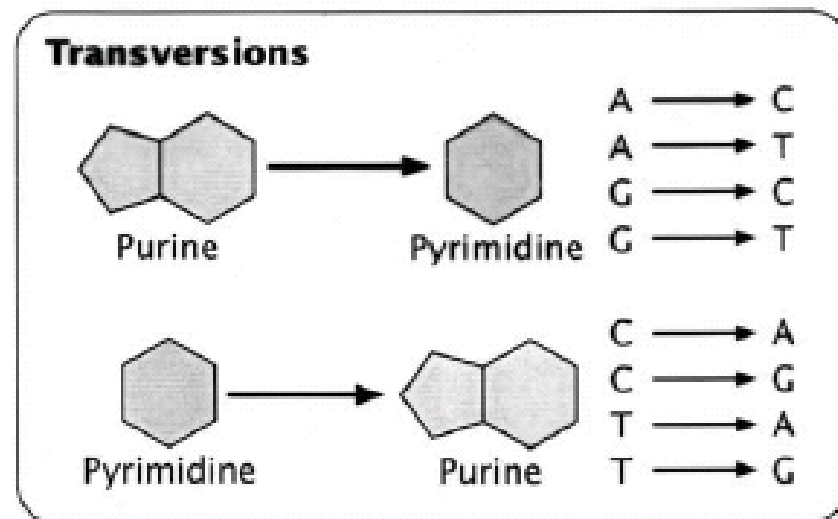
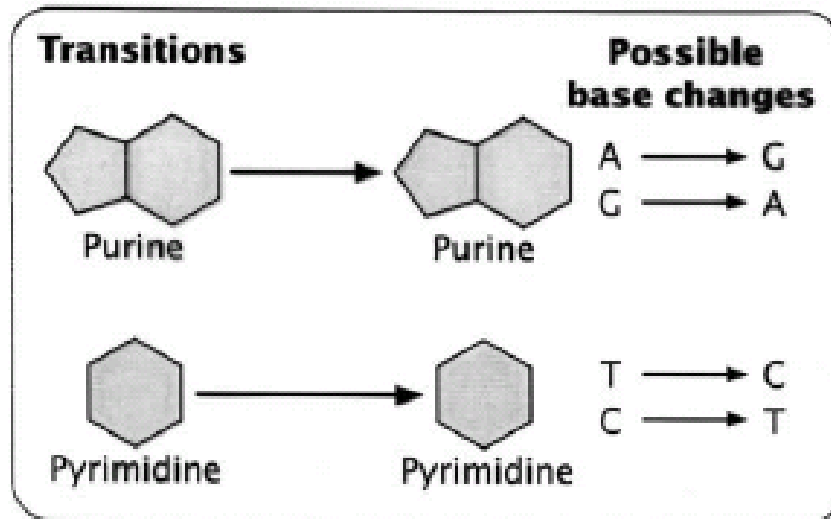
1. „Loss-of-function“-Mutationen treten häufiger auf als „gain-of-function“-Mutationen.
Sind Sie mit dieser Aussage einverstanden? Warum?



2. Definieren Sie die Begriffe „Transition“ und „Transversion“ und geben Sie Beispiele.

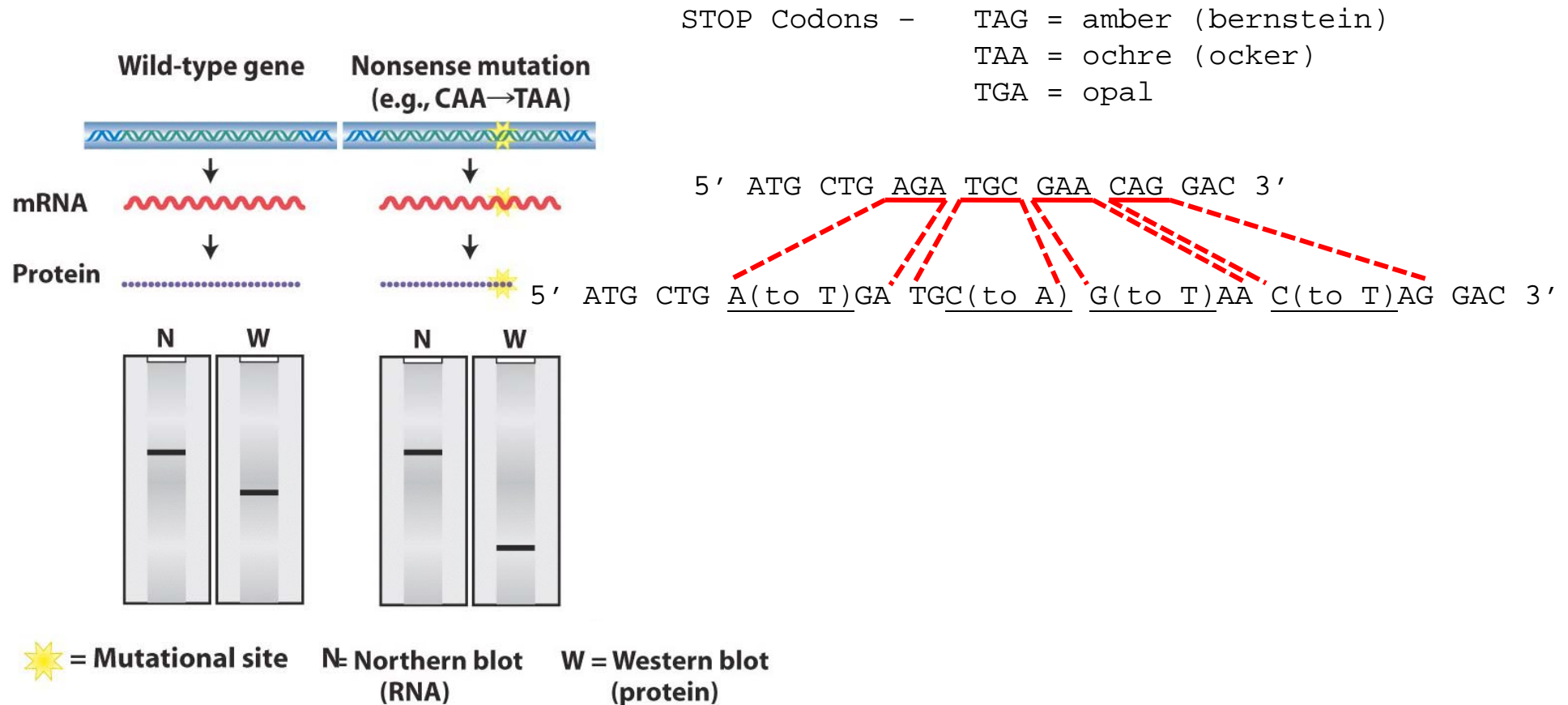
Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

| Type of mutation | Result and examples |
|---------------------|--|
| <i>At DNA level</i> | |
| Transition | Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine: $A \cdot T \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow T \cdot A$ $T \cdot A \longrightarrow C \cdot G$ |
| Transversion | Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine: $A \cdot T \longrightarrow C \cdot G$ $A \cdot T \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow C \cdot G$ $T \cdot A \longrightarrow G \cdot C$ $T \cdot A \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow G \cdot C$ |



3.

- Was ist eine „Nonsense“-Mutation?
- Welchen Einfluss haben „Nonsense“-Mutationen auf die Länge der mRNA?
- Welchen Einfluss haben „Nonsense“-Mutationen auf die Länge und Funktion des kodierten Proteins?
- Die folgende Sequenz entstammt dem kodierenden Strang eines Gens. Listen Sie alle möglichen Punktmutationen auf, die zu einer „Nonsense“-Mutation führen würden.
5' ATG CTG AGA TGC GAA CAG GAC 3'



4. Welche Typen von Punktmutationen kennen Sie?

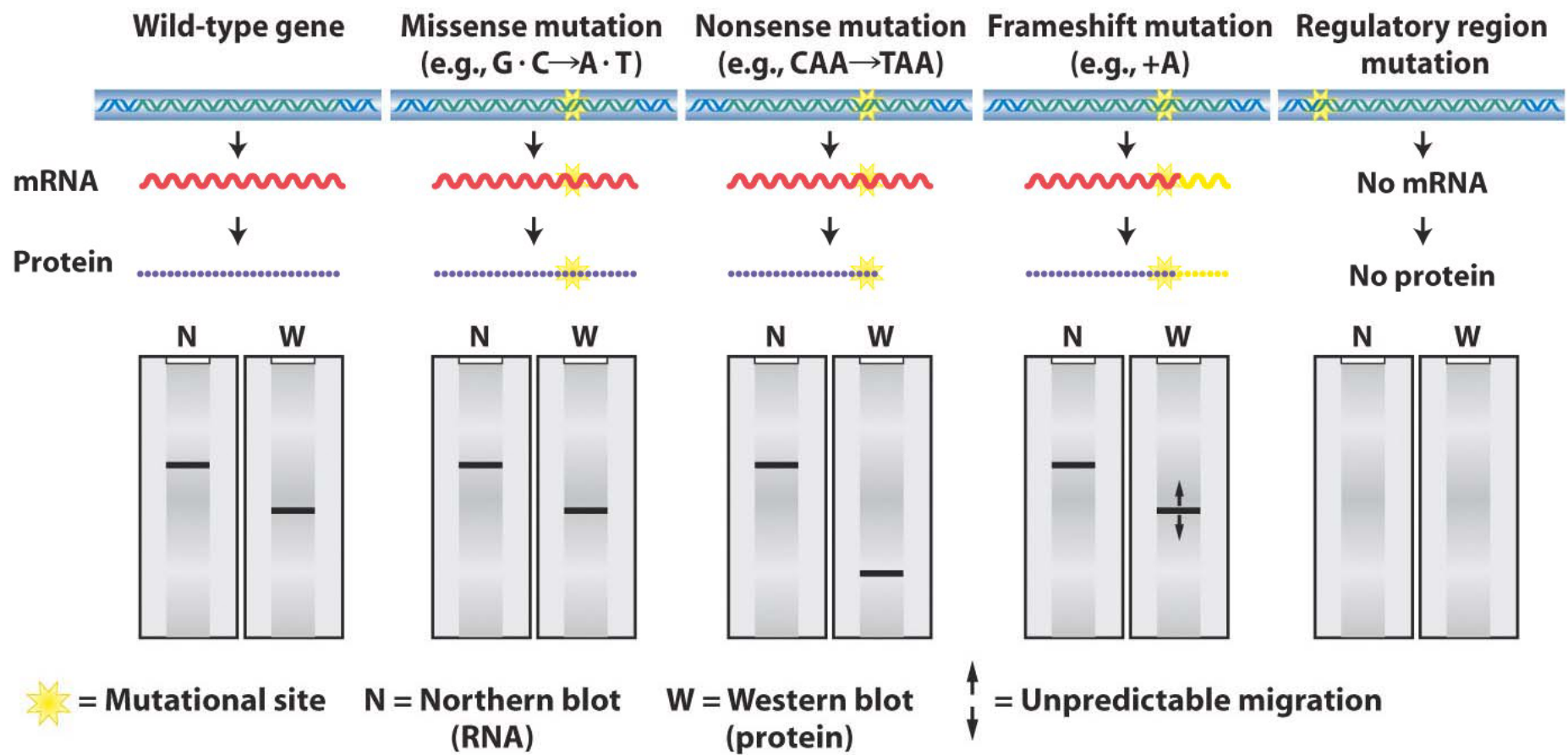
Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

| Type of mutation | Result and examples |
|---------------------|---|
| <u>At DNA level</u> | |
| Transition | <p>Purine replaced by a different purine, or pyrimidine replaced by a different pyrimidine:</p> <p>$A \cdot T \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow G \cdot C \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow T \cdot A$ $T \cdot A \longrightarrow C \cdot G$</p> |
| Transversion | <p>Purine replaced by a pyrimidine, or pyrimidine replaced by a purine:</p> <p> $A \cdot T \longrightarrow C \cdot G$ $A \cdot T \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow T \cdot A$ $G \cdot C \longrightarrow C \cdot G$ $T \cdot A \longrightarrow G \cdot C$ $T \cdot A \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow A \cdot T$ $C \cdot G \longrightarrow G \cdot C$ </p> |
| Indel | <p>Addition or deletion of one or more base pairs of DNA (inserted or deleted bases are underlined):</p> <p> <math>AAGACTCCT \longrightarrow AAGAG\text{<u>C</u>TCCT}</math> <math>AA\text{<u>G</u>ACTCCT} \longrightarrow AA\text{ACTCCT}</math> </p> |

4. Welche Typen von Punktmutationen kennen Sie?

Table 14-2 Point Mutations at the Molecular Level

| Type of mutation | Result and examples |
|---|--|
| <i>At protein level</i> | |
| Synonymous mutation = Stille Mutation | Codons specify the same amino acid: AGG → CGG Arg Arg |
| Missense mutation Conservative missense mutation = Neutrale Mutation | Codon specifies a different amino acid Codon specifies chemically similar amino acid: AAA → AGA Lys Arg (basic) (basic) Does not alter protein function in many cases |
| Nonconservative missense mutation | Codon specifies chemically dissimilar amino acid: UUU → UCU Hydrophobic Polar phenylalanine serine |
| Nonsense mutation | Codon signals chain termination: CAG → UAG Gln Amber termination codon |
| Frameshift mutation | One base-pair addition (underlined) AAG ACT CCT → AAG AGC TCC T.. One base-pair deletion (underlined) AAG ACT CCT → AAA CTC CT.. |



5. Wie kann der Phänotyp einer Mutante zum Wildtyp-Phänotyp revertieren?

Reverse Mutationen

Exakte Reversion

AAA → GAA → AAA

Äquivalente Reversion

revertiertes Codon kodiert gleiche As

Intragenische Suppressormutationen

Frameshift an anderer Stelle

„Second site“ Missense-Mutation, die die Wildtyp-Konformation des Proteins wiederherstellt

Extragenische Suppressormutationen

Mutationen in tRNA-Anticodonloop, so dass trotz Mutation die richtige As eingebaut wird

Nonsense-Suppressoren

Missense-Suppressoren

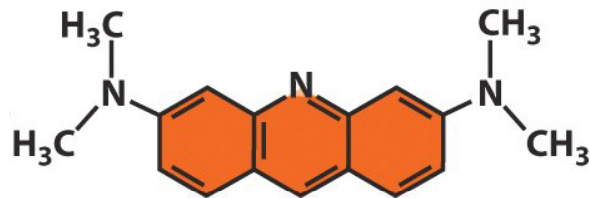
Frameshift-Suppressoren

6. Beschreiben Sie für jedes der folgende Mutagene, zu welchen DNA-Schäden und zu welchen Mutationen es führt.

- a) Acridinorange
- b) Ethylmethansulfonat (EMS)
- c) 2-Aminopurin (2AP)
- d) UV-Licht

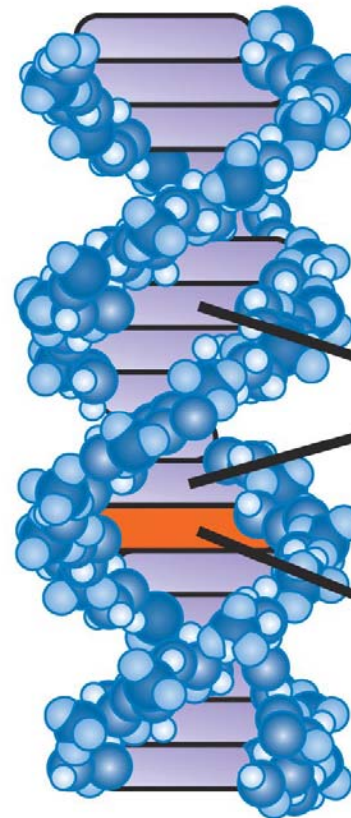
Acridinorange

interkalierende Substanz, führt zu Nukleotidinsertionen oder -deletionen



Acridine orange

Insertiert zwischen benachbarte Basen
→ stört die 3-D Struktur der Helix
→ verursacht Einzelnukleotid-Insertionen/-Deletionen während der Replikation

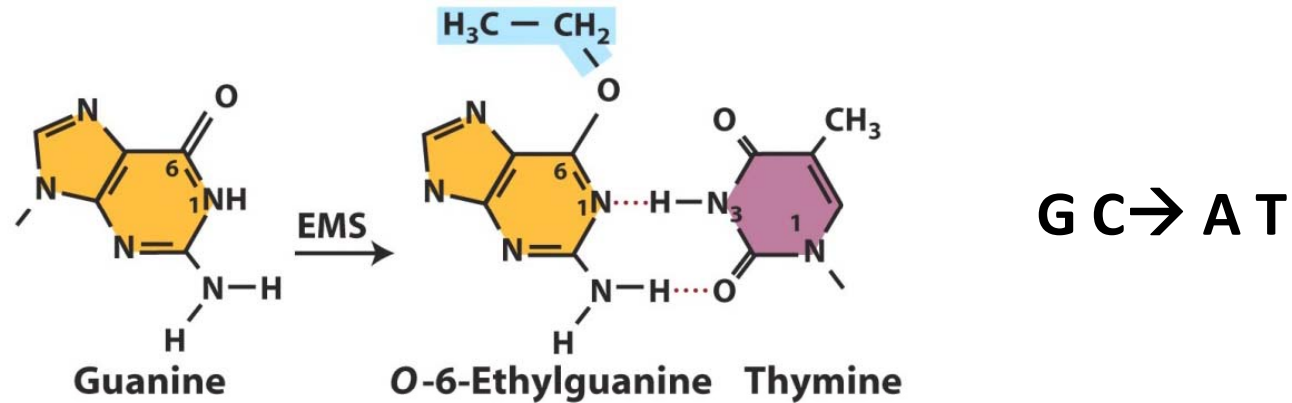


**Nitrogenous
bases**

**Intercalated
molecule**

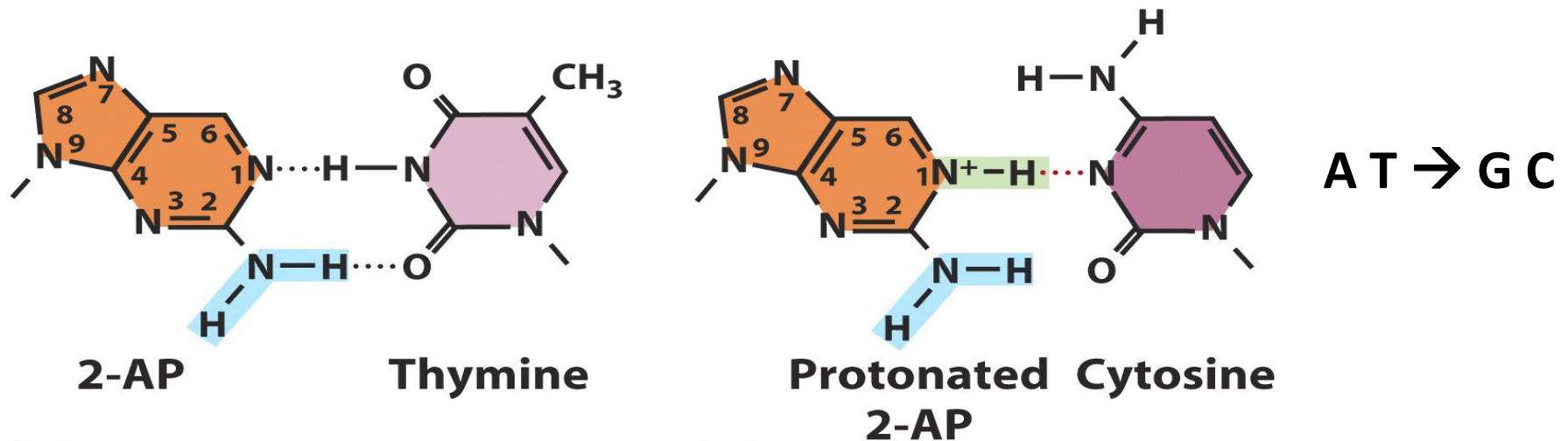
EMS

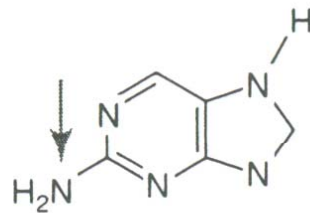
verursacht Transitionen durch **Alkylierung** von Basen (meist G)



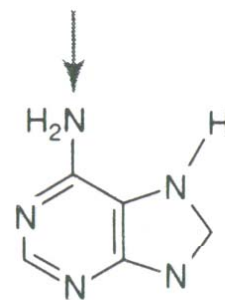
2AP

Basenanalogue, inseriert statt A und kann neben T auch mit C paaren

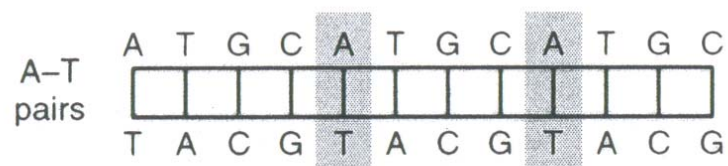




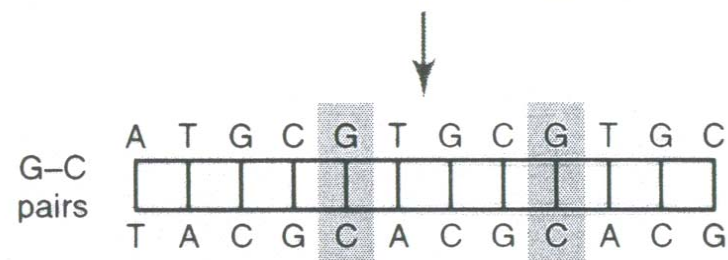
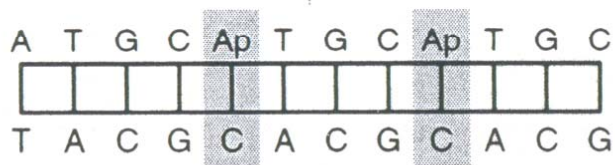
2-Aminopurine



Adenine



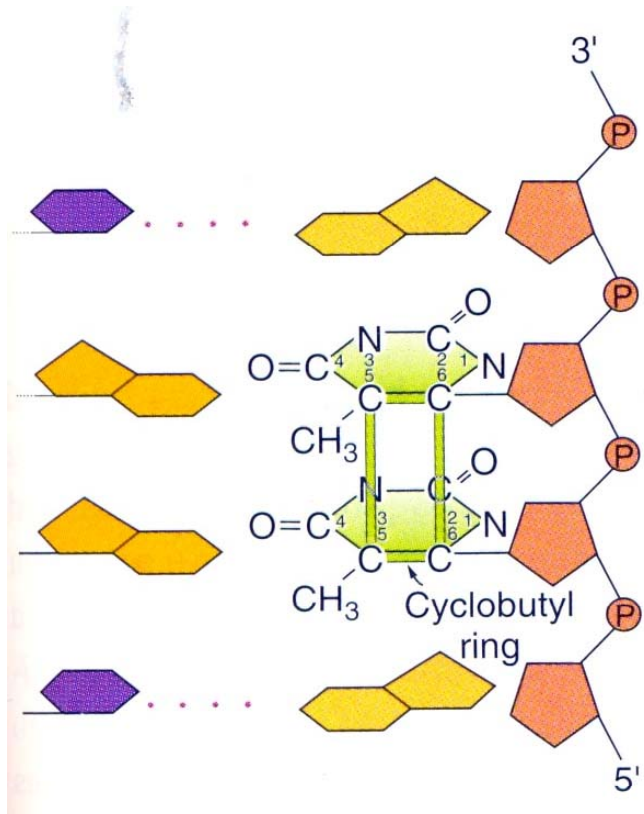
Ap substitution



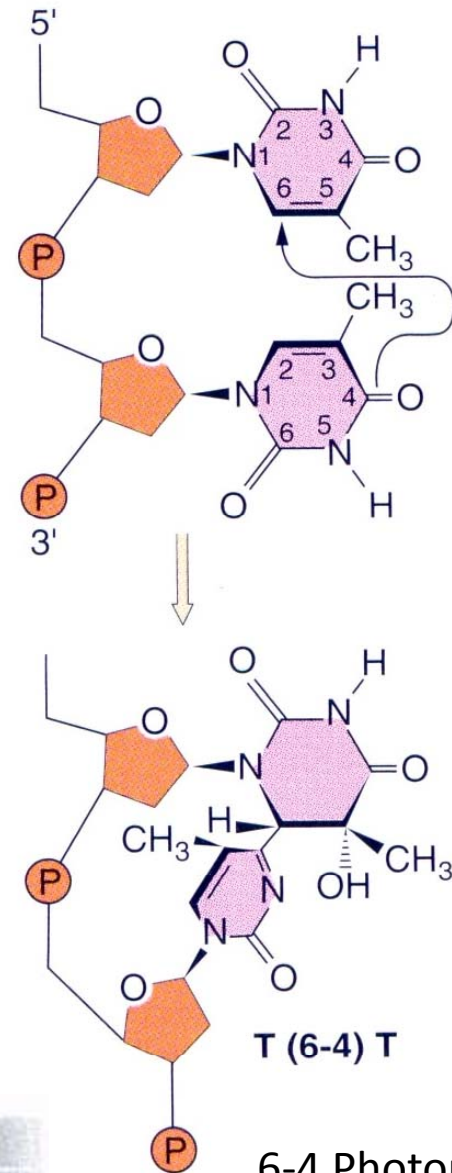
UV-Licht

verursacht Entstehung von Pyrimidin-Dimeren

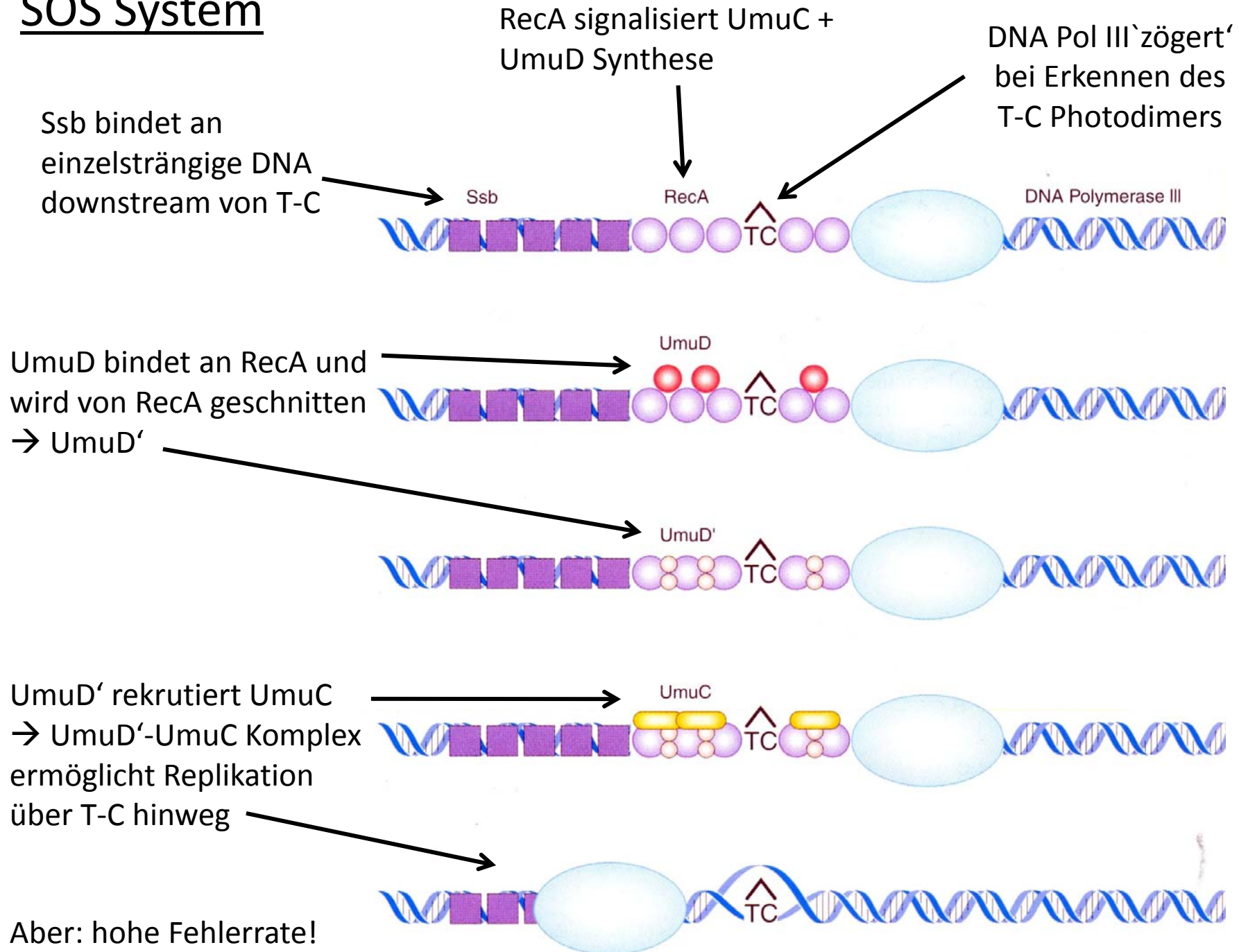
- praktisch = Deletion einer Base
- DNA Pol III kann nicht weiterlesen
- SOS Repair System → hohe Fehlerrate!



Photodimer



SOS System

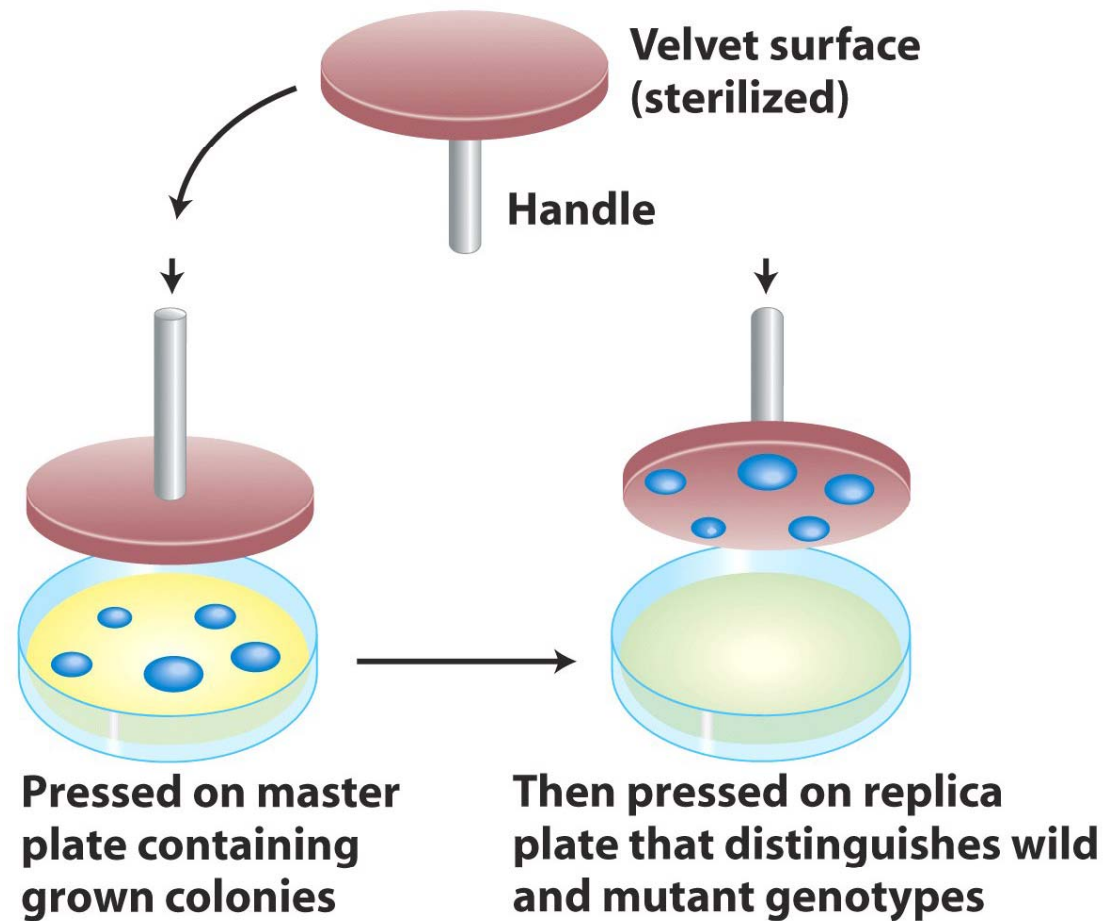


7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm

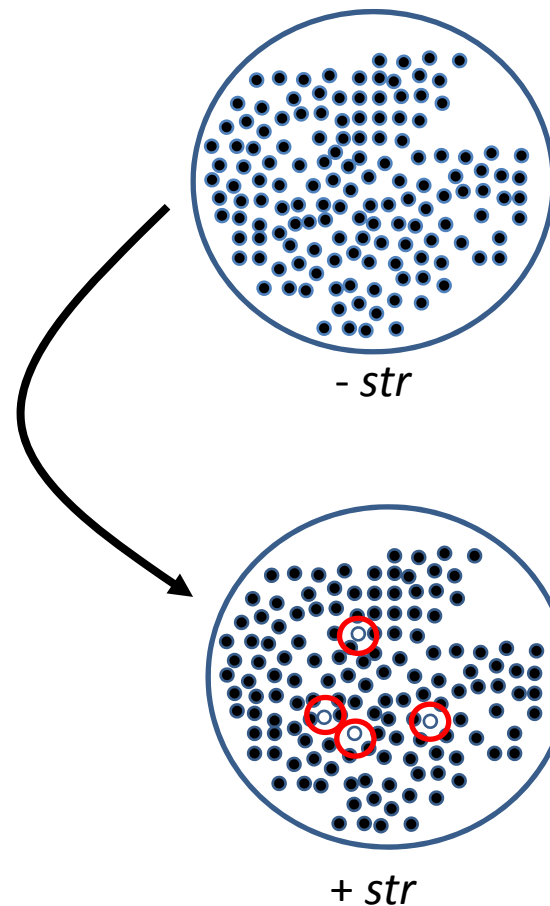
2. Auf Agar ausplattieren

3. Replikaplattierung



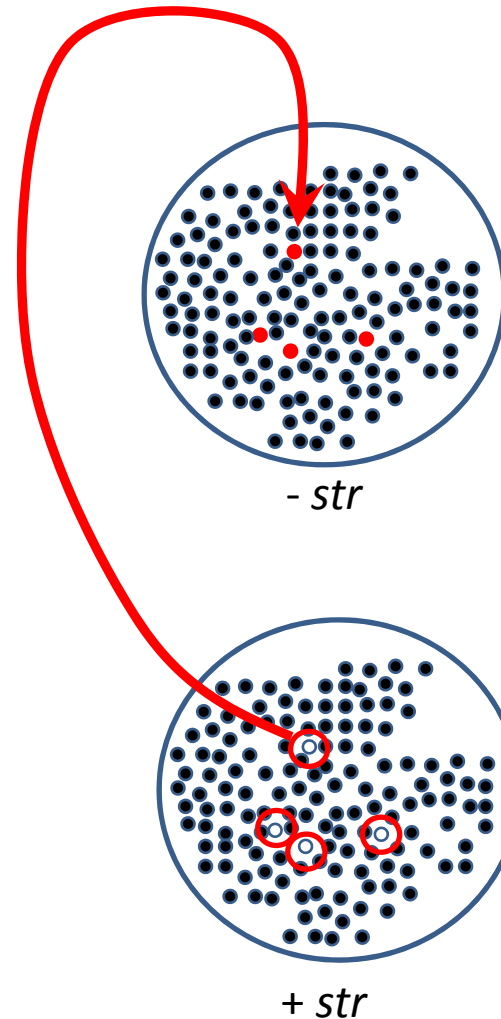
7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm
2. Auf Agar ausplattieren
3. Replikaplattierung



7. Sie besitzen einen *E. coli*-Stamm, der aufgrund der Gegenwart des *str^R*-Gens resistent gegen Streptomycin ist. Sie möchten nun Mutanten konstruieren, die aufgrund von Punktmutationen im *str^R*-Gen suszeptibel gegenüber Streptomycin sind. Wie gehen Sie vor?

1. Mutationen induzieren → z.B. Ems-Behandlung von *str^R*-*E. coli*-Stamm
2. Auf Agar ausplattieren
3. Replikaplattierung
4. Identifizierung suszeptibler Kolonien



8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

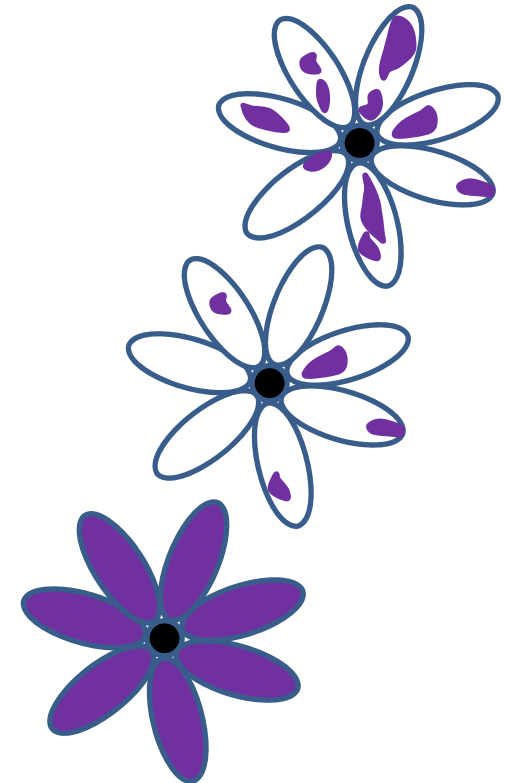
a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?

a^u/a^u —————> weiße Blüten mit purpurnen Sektoren

a^u/a —————> wie a^u/a^u , aber weniger Farbe

A/a^u —————> WT

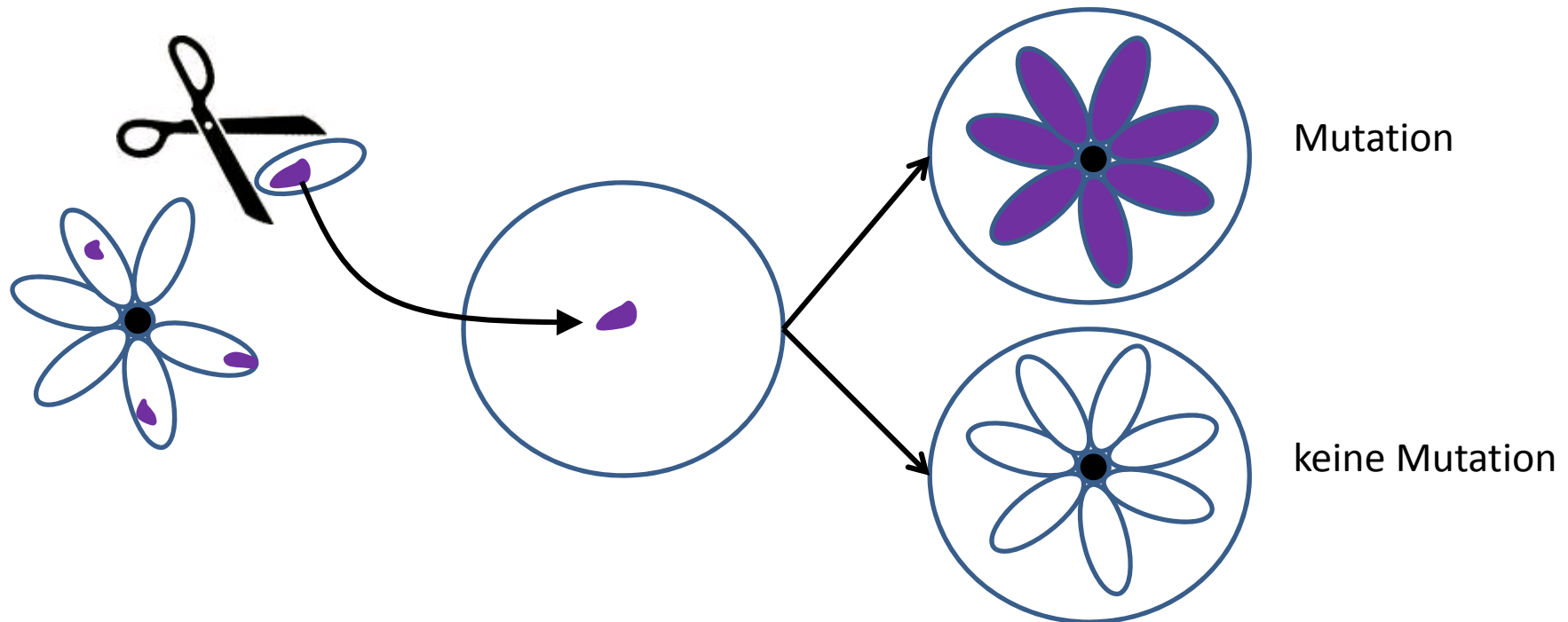


8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?

- Zellen aus dem Farbsektor entnehmen und *in vitro* Pflanze kultivieren → somatische Zellen

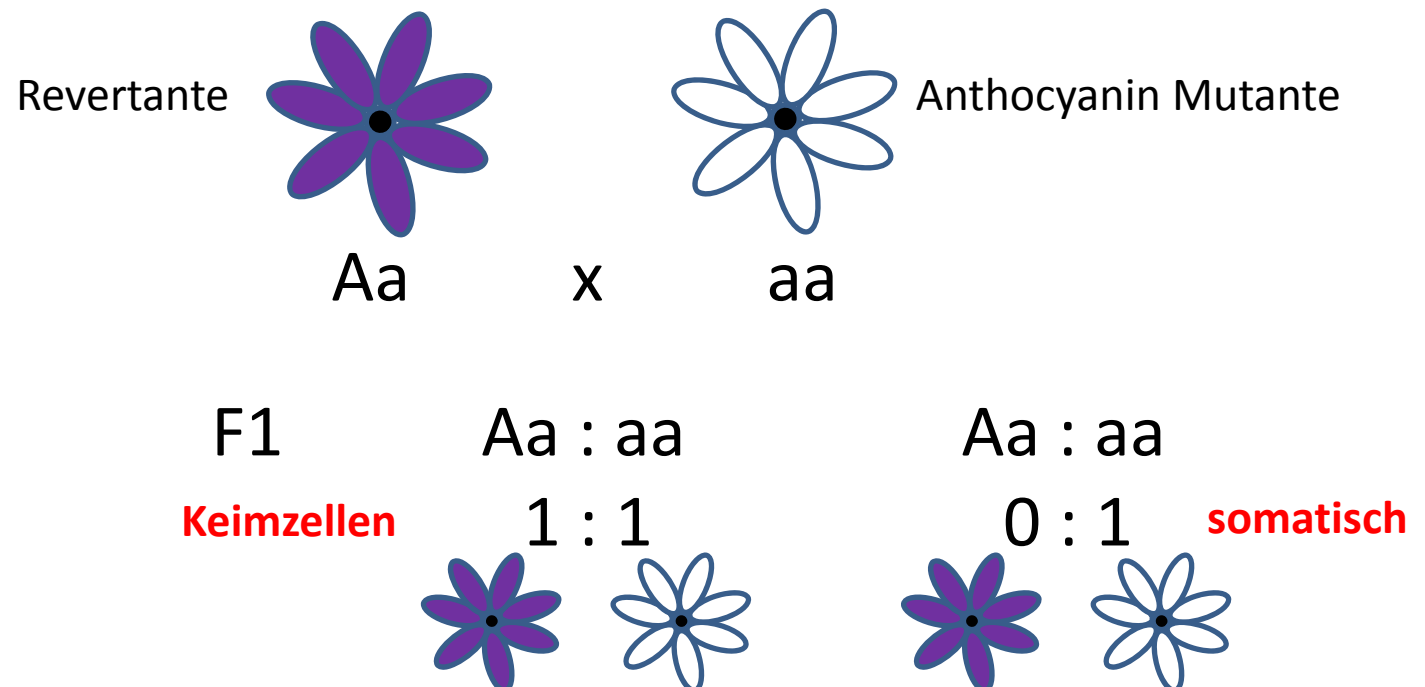


8. Eine bestimmte Pflanzensorte besitzt normalerweise das Pigment Anthocyanin, welches purpurfarbene Blüten bedingt. Das Allel A ist essentiell für die Anthocyanin-Synthese, das rezessive Allel a dagegen führt in einer Homozygote zu einer Pflanze, welche kein Anthocyanin enthält. Es gibt ein weiteres Allel a^u , welches in hoher Frequenz zu A revertiert.

a) Welche Phänotypen würden Sie in Pflanzen des Genotyps 1) a^u/a^u , 2) a^u/a und 3) A/a^u erwarten?

b) **Wie können Sie bestätigen, dass es sich bei den Reversionen tatsächlich um Mutationen handelt?**

- Zellen aus dem Farbsektor entnehmen und *in vitro* Pflanze kultivieren → somatische Zellen
- Revertante Pflanze mit a/a Anthocyanin Mutante kreuzen → Keimzellen



9. Definieren Sie folgende Begriffe:

- a) Monoploidie
- b) Euploidie
- c) Autopolyploidie
- d) Allopolyploidie

Ploidie → Anzahl homologer Chromosomensätze in einer Zelle

Monoploidie → einfacher Chromosomensatz (z.B. Fungi, männl. Bienen)

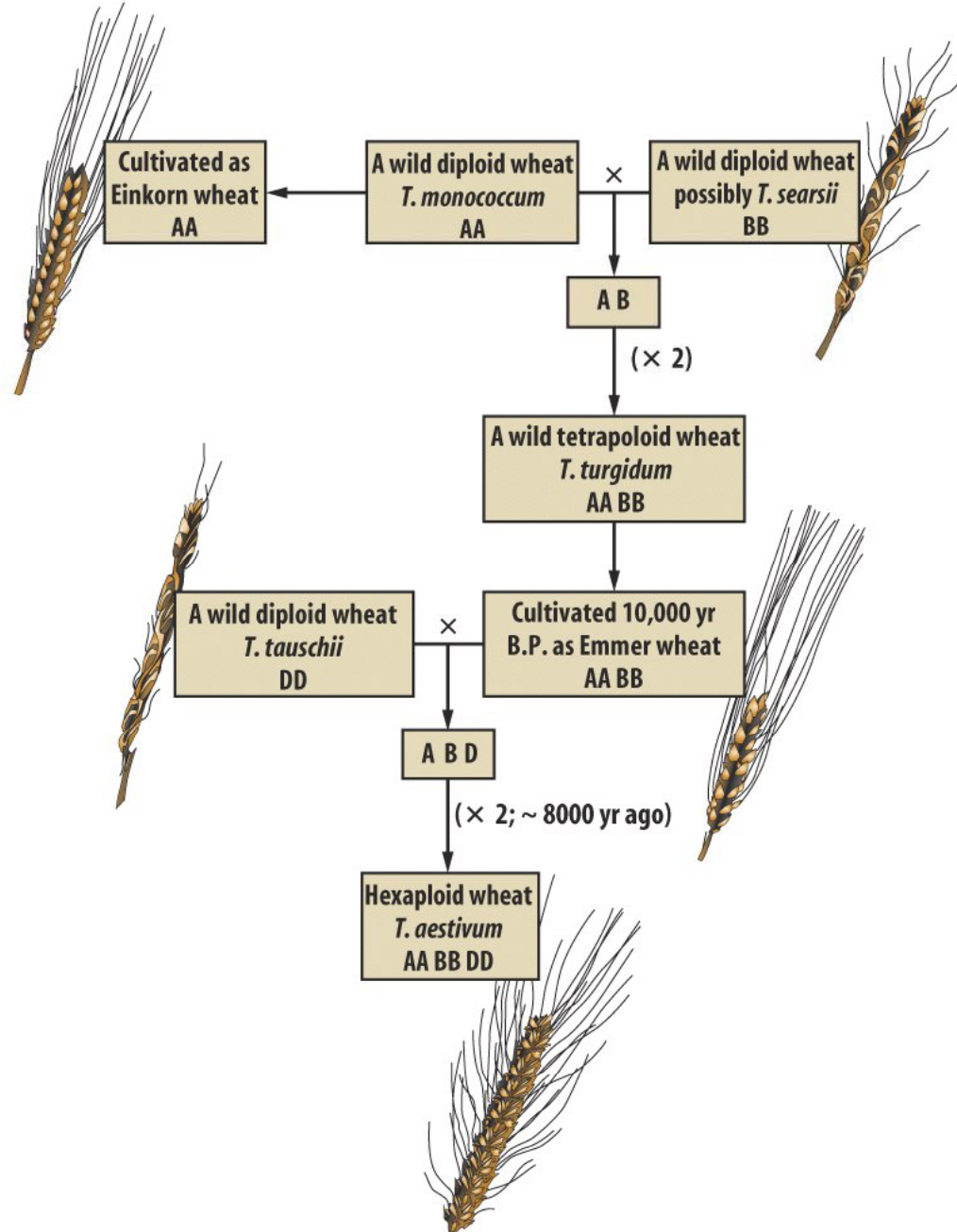
Euploidie → Vervielfachung oder Reduzierung kompletter Chromosomensätze

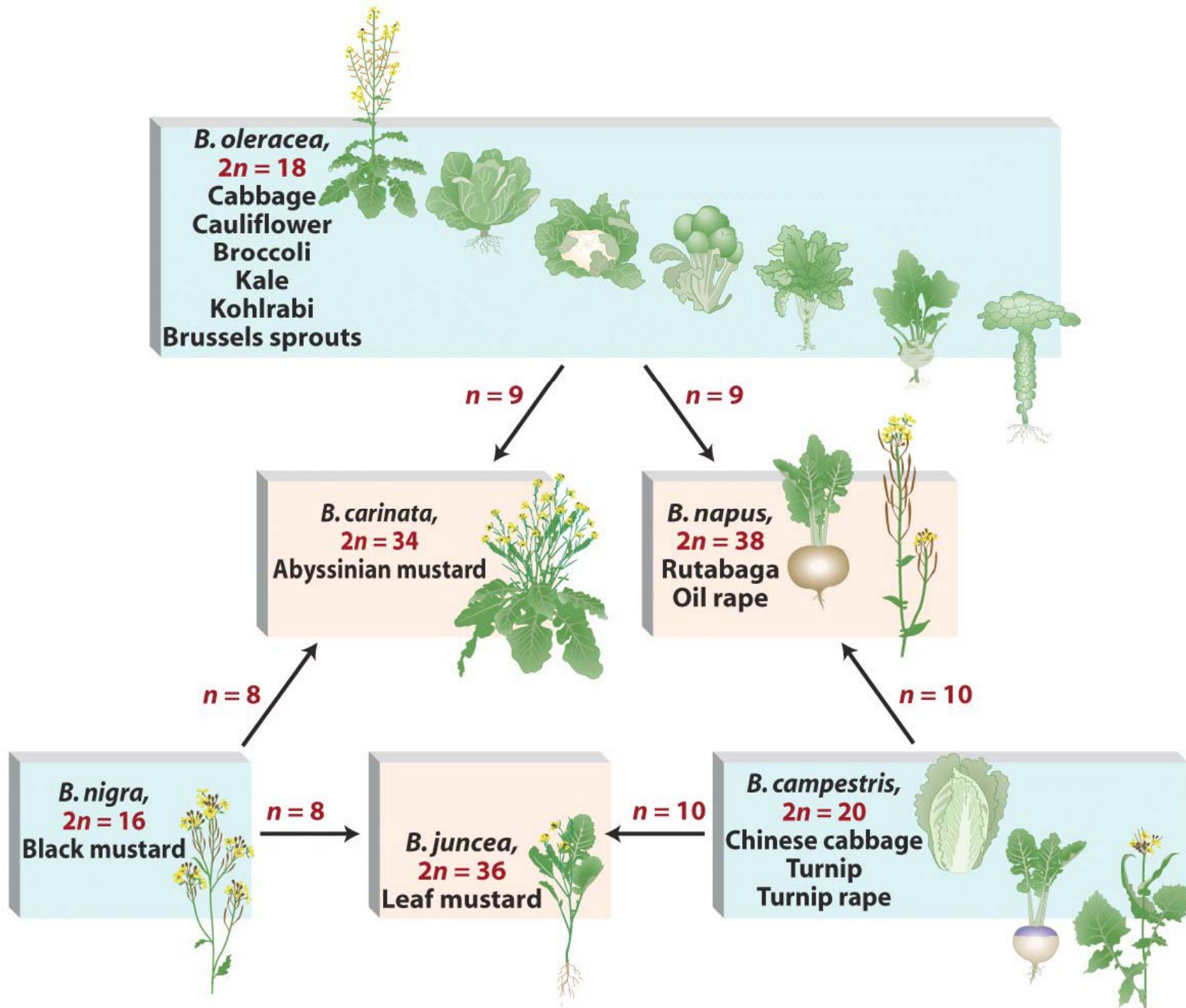
→ **Autopolyploidie** : Vervielfachung kompletter, arteigener Chromosomensätze

z.B. Zuckerrübe (wird triploid angebaut, weil höchster Ertrag, aber steril → Chromosomenpaarung während Meiose gestört → Saatgut muss aus Kreuzung von diploidem mit tetraploidem Elter produziert werden)

→ **Allopolyploidie** : Vervielfachung kompletter, aber aus verschiedenen Arten stammender Chromosomensätze

Allopolyploidie : Vervielfachung kompletter, aber aus verschiedenen Arten stammender Chromosomensätze → z.B. Weizen oder Brassica





| General mode of operation | Example | Type of lesion repaired | Mechanism |
|---------------------------|---|---|--|
| Detoxification | Superoxide dismutase | Prevents formation of oxidative lesion | Converts peroxides into hydrogen peroxide, which is neutralized by catalase |
| Direct removal of lesions | Alkyltransferases | O-6-alkylguanine | Transfers alkyl group from O-6-alkylguanine to cysteine residue on transferase |
| | Photolyase | 6-4 photoproduct | Breaks 6-4 bond and restores bases to normal |
| | Photolyase | UV photodimers | Splits dimers in the presence of white light |
| General excision | <i>uvrABC</i> -encoded exonuclease system | Lesions causing distortions in double helix, such as UV photoproducts and bulky chemical additions | Makes endonucleolytic cut on either side of lesion; resulting gap is repaired by DNA polymerase I and DNA ligase |
| Specific excision | AP endonucleases | AP sites | Makes endonucleolytic cut; exonuclease creates gap, which is repaired by DNA polymerase I and DNA ligase |
| | DNA glycosylases | Deaminated bases (uracil, hypoxanthine), certain methylated bases, ring-opened purines, oxydatively damaged bases; and certain other modified bases | Removes base, creating AP site, which is repaired by AP endonucleases |
| | GO system | 8-oxodG | A glycosylase removes 8-oxodG from DNA; another glycosylase removes the A from 8-oxodG-A mispairs, leading to re-creation of an 8-oxodG-C pair, and the first glycosylase then removes the 8-oxodG |
| Postreplication | Mismatch repair system | Replication errors resulting in base-pair mismatches | Recognizes newly synthesized strand by detecting nonmethylated adenine residues in 5'-GATC-3' sequences; then excises bases from the new strand when a mismatch is detected |
| | Recombinational repair SOS system | Lesions that block replication and result in single-stranded gaps Lesions that block replication | Recombinational exchange Allows replication bypass of blocking lesion, resulting in frequent mutations across from lesion |

Summary of common DNA repair mechanisms

| Repair System | Type of Damage Repaired |
|----------------------|--|
| Mismatch | Replication errors, including mispaired bases and strand slippage |
| Direct | Pyrimidine dimers; other specific types of alterations |
| Base-excision | Abnormal bases, modified bases, and pyrimidine dimers |
| Nucleotide-excision | DNA damage that distorts the double helix, including abnormal bases, modified bases, and pyrimidine dimers |